

РОЛЬ микроРНК В ФОРМИРОВАНИИ НЕСТАБИЛЬНОСТИ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШЕК

Обзор

© 2018 Ю.А. Королёва¹, М.С. Назаренко^{1,2,3*}, А.Н. Кучер¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики,
Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН,
634050 Томск, Россия; электронная почта: maria.nazarenko@medgenetics.ru

² Научно-исследовательский институт комплексных проблем
сердечно-сосудистых заболеваний, 650000 Кемерово, Россия

³ Сибирский государственный медицинский университет
Минздрава России, 634050 Томск, Россия

Поступила в редакцию 12.07.17

После доработки 11.09.17

МикроРНК представляют собой малые некодирующие одноцепочечные РНК, задействованные в регуляции экспрессии генов. В последнее время появляется все больше работ, подчеркивающих важную роль микроРНК в развитии и прогрессировании сердечно-сосудистых заболеваний, обусловленных атеросклеротическим поражением артерий. В обзоре обобщены данные научных работ, в которых проанализирована связь экспрессии этих биомолекул с нестабильностью атеросклеротических бляшек у модельных животных и человека. Особое внимание уделено микроРНК, информация по которым в отношении изучаемого патологического состояния представлена более чем в одной публикации (miR-21, -100, -127, -133, -143/145, -221/222 и -494). Обсуждается возможность использования отдельных микроРНК в диагностике и терапии атеросклероза и его осложнений.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: атеросклероз, нестабильность атеросклеротических бляшек, микроРНК.

Атеросклеротическое поражение артерий представляет собой хроническое воспаление, в развитие и поддержание которого вовлечены взаимодействия между различными веществами и клетками, в т.ч. макрофагами моноцитарного происхождения и клеточными элементами стенки артерии – гладкомышечными клетками сосудов (ГМКС) и клетками эндотелия (КЭ) [1]. При развитии атеросклероза происходит переключение ГМКС с нормального сократительного фенотипа на патологический пролиферативный фенотип. Пролиферация и миграция ГМКС в ходе развития атеросклеротической бляшки приводят к сужению просвета артерии. Возникающие нарушения гемодинамики способствуют провоспалительной активации и апоптозу клеток эндотелия, а изменениям сосудистой стенки, происходящие в результате стимуляции ГМКС и КЭ, привлекают в развивающуюся атеросклеротическую бляшку моноциты и макрофаги [2, 3]. В качестве защитной реакции в стен-

ке сосуда формируется фиброзная покрывка, отделяющая от просвета сосуда ядро бляшки, в котором могут протекать некротические процессы [4]. Толщина фиброзной покрывки, объем некротического ядра и кровоизлияния внутри бляшки, а также степень воспаления являются ключевыми факторами прогрессирования и осложненного течения атеросклероза. Для нестабильных бляшек (т.е. бляшек, склонных к разрыву) характерны крупное некротическое ядро, покрытое тонкой (<65 мкм) фиброзной покрывкой, а также активные процессы неоангиогенеза, эффероцитоза (поглощения макрофагами апоптотических телец) и апоптоза [5, 6].

Разрыв фиброзной покрывки нестабильной бляшки ведет к адгезии тромбоцитов, формированию тромбов, окклюзии артерий и острому ишемическим нарушениям, среди которых – инфаркт миокарда и ишемический инсульт, остающиеся ведущими причинами смертности в мире [1, 4]. Показано, что во многие биологические процессы на всех стадиях развития атеросклероза (от ранней дисфункции эндотелия до эрозии и разрыва нестабильной атеросклеротической бляшки) вовлечены микроРНК – ма-

Принятые сокращения: ГМКС – гладкомышечные клетки сосудов, КЭ – клетки эндотелия, miR – микроРНК.

* Адресат для корреспонденции.

лые регуляторные биомолекулы [5–10]. Кроме того, микроРНК рассматриваются как новые неинвазивные биомаркеры нестабильности атеросклеротических бляшек и сопутствующих ишемических нарушений. Определение их в крови больных может быть перспективным направлением для диагностики таких осложнений атеросклероза, как ишемический инсульт и инфаркт миокарда [7, 11]. При подтверждении патогенетической роли конкретной микроРНК ее можно рассматривать в качестве потенциальной терапевтической мишени [8, 10]. Возможны такие терапевтические стратегии, как введение ингибиторов или миметиков микроРНК или же подавление экспрессии атерогенной микроРНК с помощью антисмысловых олигонуклеотидов [9].

МикроРНК представляют собой некодирующие одноцепочечные РНК длиной от 16 до 27 (чаще всего – 22) нуклеотидов [12]. Согласно онлайн-базе данных miRBase (<http://microrna.sanger.ac.uk/>, обновление от 26.06.2014), в тканях человека обнаружено >2500 микроРНК, способных регулировать экспрессию >60% всех белок-кодирующих генов [9, 13, 14]. Считается, что гены микроРНК составляют ~1% генома человека [9, 15, 16]. Экспрессия микроРНК контролируется различными механизмами, включая метилирование ДНК и гистонов, которое может изменяться в т.ч. при развитии патологических состояний, таких как атеросклероз [16, 17].

В свою очередь, микроРНК способны регулировать экспрессию генов на уровне как транскрипции (изменяя структуру хроматина), так и трансляции (связываясь с мРНК-мишенью). При полной комплементарности микроРНК и мРНК последняя деградирует. Однако чаще всего наблюдается неполная комплементарность, в случае которой микроРНК подавляют трансляцию, связываясь, как правило, с 3'-нетранслируемыми регионами (UTR) мРНК [7, 17]. Кроме того, микроРНК могут связываться и с другими участками мРНК-мишеней, в т.ч. с 5'-UTR или экзонами [7, 18–21].

МикроРНК могут высвобождаться из клеток и выявляться в сыворотке крови в любой из трех стабильных форм: 1) внеклеточные микроРНК из поврежденных тканей; 2) циркулирующие микроРНК, заключенные в микровезикулы; 3) микроРНК в комплексе с мРНК-связывающим белком (липопротеины высокой плотности и др.) [22]. Показано, что различные клетки сердечно-сосудистой системы, включая кардиомиоциты и ГМКС, продуцируют микровезикулы, содержащие микроРНК [23]. Усиленная продукция этих микрочастиц не отражает увеличение количества микроРНК в клетке-продуценте. Предполагается, что упаковка микроРНК в микровезику-

лы является активно регулируемым процессом, зависящим от условий среды, в которой находится продуцирующая клетка [23].

Цель настоящего обзора заключалась в обобщении данных научных публикаций, посвященных изучению роли микроРНК в развитии нестабильности атеросклеротических бляшек у человека и модельных объектов.

ЭКСПРЕССИЯ микроРНК В СТАБИЛЬНЫХ И НЕСТАБИЛЬНЫХ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШКАХ У ЧЕЛОВЕКА

В зависимости от влияния на прогрессирование атеросклероза микроРНК можно разделить на проатерогенные, антиатерогенные и обладающие двойственной ролью [24]. Изменение экспрессии микроРНК при нарушении стабильности атеросклеротической бляшки у человека изучается преимущественно на бляшках в целом, без разделения на отдельные типы клеток (табл. 1).

Объектом большинства исследований являются бляшки сонных артерий при симптоматических стенозах, полученные в результате эндартерэктомии [3, 5, 11, 25–30], хотя в работе Raitoharju et al., кроме пораженных сонных артерий, анализировали бляшки из брюшной аорты и бедренных артерий, полученные в ходе аортобифemorального шунтирования. В качестве клинической модели нестабильных бляшек выступали бляшки пациентов, недавно перенесших острое ишемическое нарушение (транзиторные ишемические атаки или инсульт), в то время как атеросклеротические бляшки пациентов, не имевших признаков ишемии, представляли собой клиническую модель стабильной бляшки [5, 11, 25, 28]. В различных работах исследовали экспрессию от 1 до 900 микроРНК (последние – в полногеномном анализе экспрессии на микрочипах), потенциально связанных с атеросклерозом [5, 11, 25–28]. В подавляющем большинстве исследований в клетках нестабильных атеросклеротических бляшек наблюдалась гиперэкспрессия miR-100, miR-127, miR-133a, miR-133b, miR-145 и miR-494, тогда как для стабильных атеросклеротических бляшек характерен более высокий уровень экспрессии miR-21, miR-143 и miR-221. В вышеуказанных работах гиперэкспрессия miR-21 и miR-143 показана для стабильной бляшки относительно нестабильной бляшки и непораженных тканей [28], а гиперэкспрессия прочих микроРНК наблюдалась в нестабильной бляшке при сравнении со стабильной (здоровые пациенты в качестве

Таблица 1. Экспрессия микроРНК в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках человека

Вид микроРНК	Изменение экспрессии	Особенности бляшки	Локализация бляшки
miR-21	↑ ↑	стабильная н.д.	сонные артерии аорта, сонные и бедренные артерии
miR-100	↑ ↑	нестабильная ранние стадии	сонные артерии коронарные артерии
miR-127	↑	нестабильная	сонные артерии
miR-133a	↑	нестабильная	сонные артерии
miR-133b	↑	нестабильная	сонные артерии
miR-143	↑	стабильная	сонные артерии
miR-145	↑	нестабильная	сонные артерии
miR-221	↑	стабильная	сонные артерии
miR-221/222	↓	нестабильная в момент разрыва	сонные артерии
miR-494	↑	нестабильная	сонные артерии

Примечание. ↑ – Усиление экспрессии; ↓ – снижение экспрессии; н.д. – нет данных.
Таблица составлена на основе данных литературы [3, 5, 11, 25–30].

контрольной группы в данных исследованиях не рассматривались) [5, 11, 27]. Уровень экспрессии miR-100 значительно повышен в артериях уже на ранних стадиях развития атеросклеротической бляшки (показано при исследовании аутопсийного материала аорты молодых людей, погибших в возрасте 18–25 лет), причем уровень miR-100 коррелировал со степенью повреждения сосудов [30]. Снижение экспрессии выявлено только для miR-221/222 в момент разрыва нестабильной бляшки и в течение последующих пяти дней. Спустя две недели после разрыва бляшки экспрессия miR-221/222 восстанавливалась до уровня, свойственного стабильной бляшке [25].

Поскольку в атеросклеротический процесс вовлечено множество типов клеток, важно понимать, какие существуют различия в экспрессии микроРНК и их мишеней между разными типами клеток сосудов. На данный момент изменение экспрессии микроРНК хорошо изучено в нескольких типах клеток, вовлеченных в атерогенез, в частности в ГМКС, КЭ и макрофагах.

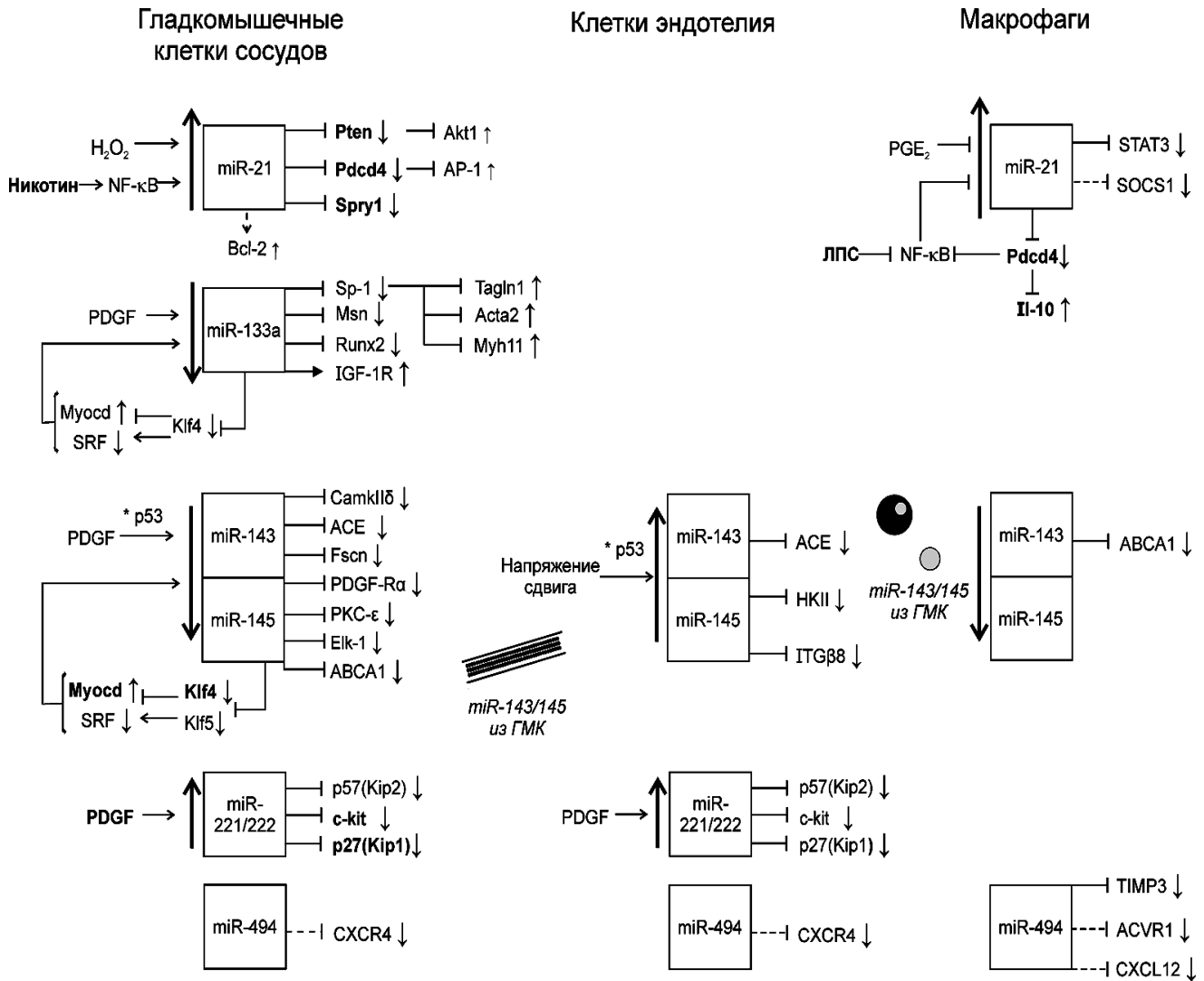
ЭКСПРЕССИЯ микроРНК В КЛЕТКАХ СОСУДОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В РАЗВИТИЕ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОЙ БЛЯШКИ: МОДЕЛЬНЫЕ ОБЪЕКТЫ

Большинство работ по изучению экспрессии микроРНК в отдельных типах клеток при атеросклерозе проводилось на модельных объектах – крысах и мышах (рисунок). Интересно, что в отличие от результатов, полученных при изучении тканей бляшки в целом, изменение уровня

экспрессии miR-100 и miR-127 в ГМКС, КЭ и макрофагах не выявлено ни в моделях на животных, ни у человека.

Исследования на модельных объектах показали, что мишени и функциональная значимость микроРНК специфичны для каждого типа клеток [36]. Кроме того, известно, что некоторые из микроРНК экспрессируются только в одном типе клеток или тканей. Так, для ГМКС специфичны miR-143 и miR-145, при этом miR-145 считается маркерной микроРНК для ГМКС, а miR-143 регулирует их фенотип практически тем же образом, что и miR-145, но ее эффект проявляется в меньшей степени [53]. Экспрессия miR-21 подтверждена не только в КЭ, где она совместно с miR-126 составляет 40% всех микроРНК, но и в ГМКС [23, 33, 36, 54]. В то же время в ГМКС экспрессия miR-133b не выявлена, а уровень экспрессии miR-133a слабее, чем в клетках скелетной и сердечной мышечной ткани [41].

Как отмечено выше, miR-143/145 экспрессируются преимущественно в ГМКС, поступая в другие вовлеченные в процесс атерогенеза клетки либо через туннельные нанотрубочки (в КЭ), либо путем переноса циркулирующими везикулами (в макрофаги) (рисунок). При этом miR-143/145 из ГМКС продолжают подавлять некоторые из мРНК-мишеней и в клетках-реципиентах. Так, и в продуцирующих микроРНК ГМКС, и в получающих их КЭ miR-143/145 подавляют мРНК ACE (ангиотензинпревращающего фермента), что способствует поддержанию сократительного фенотипа и ослаблению пролиферации неоинтимы (атеропротективное действие) [31]. В то же время в ГМКС и макро-



Факторы, влияющие на экспрессию и мишени miR-21, miR-133a, miR-143/145, miR-221/222 и miR-494 в ГМКС, КЭ и макрофагах мыши и крысы. Полу жирным шрифтом выделены названия биомолекул, играющих аналогичную роль в атеросклеротическом процессе у человека; жирными стрелками показано изменение экспрессии микроРНК под влиянием конкретных обозначенных факторов (↑ – усиление, ↓ – ослабление); → – активация экспрессии под действием вышестоящего регулятора (не обязательно микроРНК); → – стабилизация мРНК-мишени; ⊣ – подавление экспрессии под действием вышестоящего регулятора (не обязательно микроРНК); ↑ – усиление, ↓ – ослабление экспрессии мишени под действием конкретной микроРНК; * p53 – многоэтапная регуляция с участием транскрипционного фактора p53. Пунктирная линия обозначает неизученный механизм регуляции. На рисунке обозначения мРНК генов приведены в соответствии с обозначениями, используемыми в цитируемых публикациях. ABCA1 – АТФ-связывающий кассетный транспортер А1; ACE – ангиотензинпревращающий фермент; ACVR1 – рецептор активина А, тип 1; Acta2 – α-актин гладких мышц; Akt1 – серин/треониновая киназа 1; AP-1 – активирующий протеин 1 (транскрипционный фактор); Bcl-2 – белок 2 В-клеточной лимфомы (регулятор апоптоза); CamkIIδ – кальмодулин-киназа IIδ; c-kit – белковая тирозинкиназа Kit; CXCR4 – рецептор типа 4 подсемейства хемокинов CXC; CXCL12 – хемокин подсемейства CXC, лиганд 12; Elk-1 – фактор транскрипции 1, содержащий домен ETS; Fscn – фасцин (актин-стабилизирующий белок); HKII – гексокиназа II; IGF-1R – рецептор инсулиноподобного фактора роста 1; IL-10 – интерлейкин 10; ITGβ8 – интегрин β8; Klf4 и Klf5 – транскрипционные факторы: Круппель-подобный фактор 4 и фактор 5 соответственно; Msn – моззин (актинсвязывающий белок); Myh11 – тяжелая цепь миозина гладких мышц; Myocd – миокардин; NF-κB – семейство транскрипционных факторов κB; p27(Kip1), p57(Kip2) – ингибиторы циклинзависимых киназ: 1B и 1C; Pcdcd4 – белок 4 программируемой клеточной гибели; PDGF – тромбоцитарный фактор роста; PDGF-Rα – рецептор альфа тромбоцитарного фактора роста; PGE₂ – простагландин E2; PKC-ε – протеинкиназа C эпсилон; Pten – фосфатаза с двойной субстратной специфичностью; Runx2 – фактор транскрипции 2, содержащий домен Runt; SOCS1 – супрессор цитокинового сигнального пути 1; Sp-1 – транскрипционный фактор; Spry1 – гомолог белка sprouty 1; SRF – сывороточный ответный фактор; STAT3 – сигнальный белок и активатор транскрипции; Tagln1 – трансгелин 1; TIMP3 – тканевой ингибитор металлопротеиназы 1; ЛПС – липополисахарид клеточной стенки бактерий.

Схема составлена на основе данных литературы [2, 6–9, 11, 24, 27, 28, 31–52]

фагах избыток miR-143/145 ингибирует трансляцию ABCA1 (АТФ-связывающего кассетного транспортера А1), способствующего оттоку холестерина из клеток, т.е. данные микроРНК обладают атерогенными свойствами [46]. Двойственная роль этих микроРНК объясняет парадоксальное наблюдение: и при локальной гиперэкспрессии miR-143/145, и при делеции гена *Mir143/145* у мышей не происходит формирования неоинтимы в ответ на повреждение сосудов [6].

Разные микроРНК при экспрессии в одном и том же типе клеток могут регулироваться одними и теми же биомолекулами и иметь одинаковые мишени (рисунок). Так, в ГМКС на экспрессию miR-133a, miR-143/145 и miR-221/222 влияет тромбоцитарный фактор роста (PDGF), участвующий в регуляции дифференцировки и миграции ГМКС [39], однако он оказывает разнонаправленный эффект – ослабляет экспрессию miR-133a и miR-143/145, но стимулирует экспрессию miR-221/222, которые в ГМКС обладают атерогенными свойствами [32, 36, 39, 41].

Также на экспрессию miR-133a и miR-143/145 в ГМКС влияют миокардин и фактор SRF, регулируемые транскрипционным фактором Klf4 (рисунок). В свою очередь, миокардин и SRF являются непрямыми мишенями обеих микроРНК, хотя miR-133a подавляет экспрессию Klf4 через блокировку синтеза транскрипционного фактора Sp-1, а для miR-143/145 фактор Klf4 является прямой мишенью [38, 41]. Кроме того, предполагается, что miR-145 регулирует экспрессию миокардина через другой транскрипционный фактор – Klf5 [32].

Одна и та же микроРНК в различных типах клеток также может иметь идентичные мишени и регуляторы экспрессии (рисунок). Так, тромбоцитарный фактор роста (PDGF) подавляет экспрессию miR-143/145 в ГМКС через транскрипционный фактор p53, при этом p53 выступает и как промежуточное звено воздействия напряжения сдвига на экспрессию этих же микроРНК в КЭ [39, 43]. В другом случае такие вещества, как никотин и липополисахарид бактерий, усиливают экспрессию miR-21 в ГМКС и макрофагах соответственно через общий фактор – NF-κB, мРНК которого в макрофагах одновременно является и мишенью miR-21 [40, 42]. В качестве примера одинаковой мишени микроРНК в различных типах клеток можно привести мРНК CXCR4 (рецептора хемокинов) – экспрессия этого рецептора подавляется miR-494 и в ГМКС, и в КЭ. В обоих случаях действие miR-494 атерогенно и на поздних стадиях атеросклероза способствует истончению фиброзной покрышки [27].

Однако эффекты некоторых микроРНК, даже при их влиянии на одни и те же мишени, в

различных типах клеток могут быть разнонаправленными. Так, miR-21 подавляет трансляцию Pcd4 (белка 4 программируемой клеточной гибели) и в ГМКС, и в макрофагах. В этом случае в ГМКС гиперэкспрессия miR-21 способствует ослаблению апоптоза и усилению пролиферации, т.е. оказывает атерогенный эффект, в то время как в макрофагах miR-21 подавляет воспаление, лежащее в основе атерогенеза [35, 42]. Действительно, в литературе отмечена двойственная роль miR-21 (как про-, так и анти-атерогенная) в развитии атеросклероза [17, 24]. Подобная двойственность наблюдается и для miR-221/222, мишенями которых в ГМКС и КЭ являются ингибиторы циклинзависимых киназ p27(Kip1), p57(Kip2) и c-kit [36, 37]. В клетках различного типа наблюдается диаметрально противоположный эффект: в ГМКС miR-221/222 способствуют усилению пролиферации и миграции при подавлении апоптоза, а в КЭ – усиливают апоптоз, ослабляя пролиферацию и миграцию. Такое влияние данных микроРНК подтверждено как индукцией их экспрессии, так и нокаутом в каждом из типов клеток. Это наблюдаемое противоречие объясняют различной экспрессией генов ингибиторов циклинзависимых киназ в зависимости от типа клеток: p27(Kip1) и p57(Kip2) активно экспрессируются в ГМКС, но не КЭ, в то время как экспрессия c-kit усилена в КЭ, но не определяется в ГМКС [37].

ЭКСПРЕССИЯ микроРНК В КЛЕТКАХ СОСУДОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В РАЗВИТИЕ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОЙ БЛЯШКИ У ЧЕЛОВЕКА

В исследовании на модельных животных выявлено множество генов-мишеней miR-21, miR-133a, miR-143/145, miR-221/222 и miR-494 в ГМКС, КЭ и макрофагах. Важно проанализировать, насколько эти сведения перекрываются с данными, полученными для культур клеток человека или в клинических исследованиях (табл. 2).

Экспрессия микроРНК изучалась в ГМКС человека, выделенных из интактных сосудов (аорты, легочной и бедренной артерии), и в ГМКС атеросклеротических бляшек сонной артерии [42, 56, 57, 60, 61, 64, 65]. В некоторых исследованиях источник ГМКС человека не указан. КЭ представляли собой преимущественно интактные клетки аорты и пупочной вены, КЭ пораженной атеросклерозом сонной артерии рассматривались лишь в одном исследовании. Макрофаги моноцитарного происхождения изучались как у здоровых людей, так и у больных атеросклерозом, однако в этом типе клеток

Таблица 2. Экспрессия микроРНК в ГМКС, КЭ и макрофагах человека при наличии и отсутствии атеросклероза

Вид микроРНК	Атеросклероз	Локализация клеток	Факторы, влияющие на экспрессию	Функция микроРНК	Экспрессия	Мишени	Эффекты
1	2	3	4	5	6	7	8
Гладкомышечные клетки сосудов							
miR-21	н.д.	легочная артерия	TGF-β BMP гипоксия	переключение на пролиферативный фенотип ↑ миграции	↑	PDCD4 (↓) SPRY1 (↓) PPARα (↓)	ремоделирование сосудов
	н.д.	аорта	никотин IL-6 ангиотензин II	↑ пролиферации ↓ апоптоза	↑	PTEN (↓) PDCD4 (↓) SPRY1 (↓)	протективный при аневризме аорты
	н.д.	бедренная артерия	н.д.	переключение на пролиферативный фенотип ↑ миграции	↑	TPM1 (↓)	ремоделирование сосудов
miR-143/145	н.д.	аорта	miR-143/145 из КЭ (в везикулах)	↓ дедифференцировки	↑	н.д.	атеропротективный
miR-145	н.д.	аорта	н.д.	поддержание сократительного фенотипа	н.д.	KLF4 (↓) MYOCD (↑) ^{*a}	атеропротективный
	+	сонная артерия	н.д.	поддержание сократительного фенотипа	↑ при атеросклерозе с гипертензией	восемь предполагаемых мишеней	атеропротективный, но ↑ указывает на риск нестабильности
miR-221/222	н.д.	легочная артерия	PDGF	переключение на пролиферативный фенотип ↑ миграции ↓ дифференцировки	↑	p27 (KIP1) (↓) c-kit (↓)	атерогенный
	н.д.	аорта	н.д.	н.д.	н.д.	ETS-1 (↓)	н.д.
Клетки эндотелия							
miR-21	н.д.	пупочная вена (HUVEC)	любой вид напряжения сдвига c-Jun	↓ апоптоза ↑ продукции NO ↑ воспаления ↑ адгезии моноцитов к эндотелию	↑	PTEN (↓) Akt1 (↑) ^{*б} eNOS ^{*б1} PPAR-α (↓) AP-1 (↑) ^{*в} VCAM-1 (↑) ^{*вв} MCP-1 (↑) ^{*в1}	двойственная роль: атеропротективная и атерогенная
	н.д.	аорта	н.д.	↓ апоптоза	↑ при аневризме ↓ при старении	BCL2 (↑) [#] PTEN (↓) p27(KIP1) (↓)	протективный при аневризме аорты
miR-133a	н.д.	аорта	н.д.	↓ NO	↓ при старении	CAV-1 (↓) eNOS (↓) ^{*г}	атерогенный

1	2	3	4	5	6	7	8
	н.д.	пупочная вена (HUVEC)	н.д.	↑ стабильности бляшки ↓ апоптоза	н.д.	MMP-9 (↓) PAI-1 (↓)	н.д.
miR-143/145	н.д.	пупочная вена (HUVEC)	ламинарный ток крови KLF2	↓ дедифференцировки ГМКС, к которым поступают в везикулах ↑ стабильности бляшки ↓ апоптоза	↑	PAI-1 (↓)	двойственная роль: атеропротективная и атерогенная
miR-221/222	н.д.	HUVEC	ангиотензин II IL-3 FGF PAK1	↓ воспаления ↓ ангиогенеза ↓ пролиферации ↓ миграции	↓	c-kit (↓) ETS-1 (↓) VCAM-1 (↑) ^{*д} MCP-1 (↑) ^{*д} FLT-1 (↑) ^{*д} ZEB2 (↓) GAX (↑) ^{*е}	двойственная роль: атеропротективная и атерогенная
	н.д.	аорта	н.д.	↓ NO	↓ при старении	eNOS (↓) ^г	атерогенный

Макрофаги

miR-21	н.д.	мононуклеары крови	ЛПС бактерий эффероцитоз	↑ эффероцитоза ↓ воспаления ↓ иммунного ответа	↑	PTEN (↓) PDCD4 (↓) GSK3β (↓) IL-10 (↑) ^{**}	атеропротективная
	+	мононуклеары крови	н.д.	дестабилизация бляшки	↑	RECK (↓) MMP-9 (↑) ^{*з}	дестабилизация

Примечание. н.д. – Нет данных; ↑ – усиление; ↓ – ослабление; обозначения мРНК генов приведены в соответствии с обозначениями в цитируемых публикациях. Akt1 – серин/треонинкиназа 1; AP-1 – активирующий протеин 1 (транскрипционный фактор); BMP – костный морфогенетический белок; BCL2 – белок 2 В-клеточной лимфомы (регулятор апоптоза); c-Jun – белок семейства Jun; c-kit – белковая тирозинкиназа Kit; CAV-1 – caveолин 1; eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота; ETS-1 – фактор транскрипции семейства ETS; FGF – фактор роста фибробластов; FLT-1 – fms-связанная тирозинкиназа 1; GAX (MEOX) – мезенхимальный гомеобокс 2; GSK3β – киназа синтазы гликогена 3 бета; HUVEC – клетки эндотелия пупочной вены человека; IL-3, IL-6 и IL-10 – интерлейкины 3, 6 и 10 соответственно; KLF2 и KLF4 – транскрипционные факторы: Круппель-подобный фактор 2 и фактор 4 соответственно; MCP-1 – моноцитарный хемоаттрактантный протеин 1; MMP-9 – матриксная металлопротеиназа 9; MYOCD – миокардин; p27(KIP1) – ингибитор циклинзависимых киназ 1B; PAI-1 – ингибитор активатора плазминогена; PAK1 – серин/треонинкиназа 1, активируемая p21; PDCD4 – белок 4 программируемой клеточной смерти; PDGF – тромбоцитарный фактор роста; PPAR-α – активируемый пероксисомными пролифераторами рецептор альфа; PTEN – фосфатаза с двойной субстратной специфичностью; RECK – индуцирующий реверсию цистеинбогатый белок с мотивами kazal (опухольный супрессор); SPRY1 – гомолог белка sprouty 1; TGF-β – трансформирующий ростовой фактор бета; TPM1 – тропомиозин 1; VCAM-1 – адгезивная молекула сосудистых клеток; ZEB2 – гомеобокс 2, связывающий E-бокс цинкового пальца.

* Непрямая мишень; буквами обозначена регуляция посредством следующих факторов: ^а KLF4, ^б PTEN, ^в PTEN и его мишени Akt1, ^г PPAR-α, ^д PPAR-α и его мишени AP-1, ^е caveолина, ^ж ETS-1, ^з ZEB2, * PDCD4, ^и RECK; # механизм регуляции не выяснен.

Таблица составлена на основе данных литературы [2, 3, 5–9, 24, 26, 28, 29, 42, 49–52, 55–68].

человека изменение экспрессии выявлено только для miR-21.

Во всех исследуемых типах клеток (табл. 2) экспрессия miR-21 повышена при патологии сосудов (атеросклероз, артериосклероз и аневризма аорты), однако снижается в КЭ при их старении [42, 60, 61, 66]. Экспрессию miR-21 у человека стимулируют те же вещества, что и в случае модельных животных — никотин и активные формы кислорода, а также некоторые другие стимулы, роль которых изучалась только на клетках человека — гипоксия, TGF- β (трансформирующий ростовой фактор бета), BMP (костный морфогенетический белок), IL-6 и ангиотензин II [42, 56].

Необходимо отметить, что у человека, в отличие от модельных животных (см. выше), miR-21 не регулирует экспрессию BCL2 в ГМКС аорты, а также PDCD4 и SPRY1 в КЭ аорты, что говорит о значительной видовой специфичности эффекта miR-21 в клетках [42]. Однако данные о влиянии miR-21 на экспрессию PTEN у человека противоречивы: Maegdefessel et al. указывают, что экспрессия PTEN в КЭ аорты не зависит от miR-21, в то время как Rippe et al. показали связь активности miR-21 с экспрессией PTEN как в молодых, так и в стареющих КЭ аорты [66]. В данном случае нельзя исключить, что к подобным противоречиям приводит влияние различных факторов среды на экспрессию микроРНК.

Несмотря на подобные единичные противоречия, можно утверждать, что мишени одних и тех же микроРНК у модельных объектов и человека преимущественно совпадают (рисунок, табл. 2). Так, в ГМКС miR-21 ингибирует трансляцию PTEN, PDCD4 и SPRY1, что способствует переключению клеток с сократительного фенотипа на пролиферативный [42]. Кроме того, в ГМКС человека miR-21 подавляет и другие мРНК-мишени, например, PPAR- α (активируемый пероксисомными пролифераторами рецептор альфа) и TRP1 (тропомиозин 1), тем самым поддерживая атерогенный пролиферативный фенотип [61]. Тем не менее в КЭ и макрофагах miR-21 играет двойственную роль. Считается, что в КЭ на ранних этапах развития атеросклероза miR-21 оказывает провоспалительный эффект, активируя экспрессию провоспалительного белка VCAM-1, но на поздних стадиях патологического процесса она может способствовать подавлению воспаления, например, путем индукции эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) и, как следствие, повышенной продукции атеропротективного оксида азота (NO), подавляющего активацию и адгезию моноцитов и экспрессию провоспалительных цитокинов [8, 24,

62, 69]. В макрофагах гиперэкспрессия miR-21 на ранних этапах развития атеросклероза участвует в подавлении воспаления и иммунного ответа [68], однако в макрофагах сформировавшихся и нестабильных атеросклеротических бляшек miR-21 усиливает экспрессию металлопротеиназы MMP-9, что приводит к истончению фиброзной покрышки [70].

Сходное с miR-21 усиление экспрессии в ГМКС и КЭ выявлено для miR-143 и miR-145 (табл. 2). При исследовании КЭ пупочной вены человека и ГМКС аорты было показано, что КЭ секретируют везикулы, содержащие miR-143/145 и поступающие к ГМКС, где эти микроРНК поддерживают сократительный фенотип [64]. Учитывая то, что на модельных животных установлена передача miR-143/145 от ГМКС в другие клетки по туннельным нанотрубкам или везикулам, можно предположить наличие обмена miR-143/145 между ГМКС и КЭ сосудов человека [46, 47]. Другие данные, полученные при изучении клеток человека, согласуются с результатами работ, выполненных на модельных животных. В частности, показано, что miR-143/145 преимущественно экспрессируются в ГМКС, причем этот процесс частично регулируется такими биомолекулами, как миокардин и KLF4, которые являются одновременно стимулами экспрессии и мишенями микроРНК (на посттранскрипционном уровне) [26, 65]. Предполагается, что на ранних этапах атерогенеза miR-143 и miR-145 играют протективную роль, однако в том случае, когда поздние стадии атеросклероза сопровождаются гипертензией, повышение экспрессии miR-145 является компенсаторной реакцией в ответ на хронический стресс и указывает на риск нарушения стабильности бляшки [26]. Иными словами, эффекты микроРНК могут модифицироваться при наличии сопутствующих (коморбидных) патологических состояний.

Если для miR-21 и miR-143/145 характерно однонаправленное изменение экспрессии во всех проанализированных типах клеток, то экспрессия miR-221/222 в различных типах клеток изменяется разнонаправленно и оказывает иной эффект (табл. 2), несмотря на регуляцию одних и тех же ингибиторов клеточного цикла, что согласуется с исследованиями на модельных животных (рисунок) [36, 37, 55, 57]. В ГМКС артерий наблюдается гиперэкспрессия miR-221/222, способствующая переключению этих клеток на пролиферативный фенотип, т.е. эти микроРНК обладают атерогенными свойствами [57]. В КЭ пупочной вены при аналогичном усилении экспрессии miR-221/222 воспаление и пролиферация ослабляются, что говорит об атеропр-

тективном эффекте самих микроРНК [58, 59, 63, 66, 67]. Механизм подавления воспалительного ответа в КЭ заключается в ингибировании факторов транскрипции ETS1, ZEB2 и STAT5, что также способствует и ослаблению ангиогенеза [55, 58, 59, 66], и, по мнению некоторых исследователей, оказывает атерогенное влияние, т.к. ангиогенез требуется для восстановления стенки сосудов [2]. Атерогенность miR-221/222 подтверждается наблюдением, что в КЭ аорты экспрессия данных микроРНК сопровождается ослаблением продукции NO, обладающего атеропротективными свойствами [66]. Разнонаправленность действия miR-221/222 в ГМКС и КЭ, как и в случае с miR-21, можно объяснить клеточной специфичностью влияния микроРНК.

Подобная специфичность проявляется и у miR-133a (табл. 2). В стареющих КЭ мишени и паттерн экспрессии данной микроРНК полностью совпадают с таковыми у miR-221/222, т.е. экспрессия микроРНК снижается, усиливая продукцию NO через эндотелиальную синтазу eNOS. Таким образом, miR-133a оказывает атерогенное действие [66]. В то же время в КЭ почечной вены miR-133a подавляет металлопротеиназу MMP-9 и ингибитор активатора плазминогена PAI-1, что в случае уже сформировавшихся атеросклеротических бляшек способствует поддержанию их стабильности [13]. Несмотря на то что miR-133a считается одним из

маркеров ГМКС, изменение ее экспрессии в ГМКС человека при атеросклеротическом поражении не показано [11].

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ микроРНК: ПЕРСПЕКТИВЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Помимо изучения экспрессии микроРНК непосредственно в атеросклеротической бляшке и составляющих ее клетках значительный интерес представляет возможность использования циркулирующих микроРНК в диагностических и терапевтических целях при атеросклерозе. Однако имеющиеся в литературе сведения о таком применении микроРНК ограничены (см. табл. 3).

Некоторые циркулирующие микроРНК рассматриваются как потенциальные биомаркеры сердечно-сосудистых заболеваний. Уровень miR-143 и miR-145 в плазме изменяется при гипертонической болезни, ишемической болезни сердца и инфаркте миокарда [53]. Уровень циркулирующей miR-133 (в сочетании с miR-1 и miR-208a) показал свою перспективность для диагностики ишемической болезни сердца и инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST [71, 72].

Высокая чувствительность при субклиническом атеросклерозе и ишемическом инсульте установлена для уровня циркулирующей miR-21

Таблица 3. Уровень циркулирующих микроРНК при атеросклерозе и его осложнениях у человека и предлагаемые терапевтические стратегии, показавшие эффективность в модели атеросклероза на мышах

Вид микроРНК	Анализируемый материал	Уровень циркулирующих микроРНК	Патология	Терапевтические стратегии (модель на мышах)
miR-21	сыворотка периферической крови	↑	субклинический атеросклероз, острый ишемический инсульт	н.д.
miR-100	плазма аортальной крови	↑	клинический атеросклероз	н.д.
miR-133	сыворотка и плазма периферической крови	↑ (вместе с miR-1 и miR-208a)	ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST	н.д.
miR-143/145	сыворотка и плазма периферической крови	↓	ишемическая болезнь сердца	введение везикул, содержащих miR-143 и miR-145
miR-221	сыворотка периферической крови	↓	острый ишемический инсульт	н.д.
miR-494	н.д.	н.д.	н.д.	введение ингибиторов miR-494

Примечание. ↑ – Повышение, ↓ – снижение уровня циркулирующих микроРНК по сравнению с контрольной группой здоровых людей; н.д. – нет данных.

Таблица составлена на основе данных литературы [3, 9, 27, 53, 64, 71–73].

(повышение при обоих состояниях) и miR-221 в периферической крови (снижение только при инсульте) [3, 73]. Тем не менее miR-21 и miR-221/222 неспецифичны в отношении атеросклеротического поражения — повышение их уровня в крови может наблюдаться и при различных онкологических заболеваниях [13, 22], что значительно уменьшает прогностическую значимость микроРНК конкретно в отношении атеросклероза.

В качестве биомаркера уязвимости атеросклеротической бляшки коронарных сосудов предлагается miR-100, т.к. установлено, что ее уровень в крови аорты положительно коррелирует с объемом липидов и отрицательно — с объемом фиброзной ткани (в процентах от объема бляшки) [74]. Однако данное исследование проводилось на образцах крови из аорты и коронарного синуса, но не на периферической венозной крови, что ставит под сомнение применимость подобного анализа в диагностике. Кроме того, в аналогичной работе при изучении в т.ч. циркулирующей miR-145 уровень микроРНК в периферической крови не соответствовал таковому в артериальной крови, хотя степень развития атеросклеротической бляшки в значительной степени коррелировала с транскоронарным градиентом концентрации miR-145 (разницей концентрации циркулирующих микроРНК крови в коронарном венозном синусе по сравнению с луковицей аорты) [75].

Возможность терапевтического применения микроРНК или же их ингибиторов (в случае ослабления или усиления их экспрессии в пораженных сосудах соответственно) на данный момент оценивалась только на модельных объектах. В модели атеросклероза на мышах показано, что внутривенное введение везикул, содержащих miR-143 и miR-145, или ингибиторов miR-494 приводило к сокращению площади поражения и заметной стабилизации атеросклеротической бляшки [9, 27, 64]. Предполагается, что терапия аналогами miR-143 и miR-145 или же терапевтическое ингибирование miR-494 могут ослабить формирование атеросклероза и повысить стабильность бляшки у пациентов с окклюзионным поражением артерий [27]. Однако в отсутствие клинических исследований эффекта miR-143/145 и ингибиторов miR-494 нельзя однозначно утверждать, что подобные методы могут оказаться перспективными для пациентов с атеросклеротическим поражением артерий.

Проблема использования циркулирующих микроРНК в качестве терапевтических мишеней заключается в том, что в разных клетках сосудов эти биомолекулы могут оказывать диаметрально противоположное воздействие. Так, в ГМКС наблюдается гиперэкспрессия miR-221/222

(атерогенный эффект), но в КЭ аорты экспрессия miR-221/222 снижается (защитное влияние). Даже при подтвержденной гиперэкспрессии некоторых микроРНК в атеросклеротической бляшке для ряда из них показано разнонаправленное действие на разных стадиях атерогенеза или же в различных клетках пораженных сосудов. Так, на ранних стадиях атеросклероза miR-21 в КЭ оказывает провоспалительный эффект, а в макрофагах — участвует в подавлении воспаления и иммунного ответа. При уже развившемся атеросклерозе эффект miR-21 диаметрально противоположен: в КЭ ее экспрессия приводит к подавлению воспаления, а в макрофагах — способствует дестабилизации бляшки [69]. Из-за подобной неоднозначности влияния применение как самих микроРНК или их аналогов, так и ингибиторов микроРНК в терапевтических целях в настоящее время представляется сомнительным. Однонаправленность действия во всех клетках показана только для атеропротективных miR-143/145, однако следует помнить, что их гиперэкспрессия может быть компенсаторной в случае угрозы дестабилизации бляшки [26]. Все это указывает на большие сложности, с которыми придется столкнуться при разработке таргетных средств терапии на основе микроРНК таких осложнений атеросклеротического поражения артерий, как ишемический инсульт и инфаркт миокарда.

Таким образом, исследования, в которых анализируется связь изменения экспрессии генов микроРНК в клетках атеросклеротических бляшек артерий, а также уровня циркулирующих микроРНК в крови с нестабильностью атеросклеротических бляшек и острыми сосудистыми нарушениями у человека, немногочисленны. Тем не менее имеющиеся данные позволяют рассматривать эти биомолекулы в качестве перспективных диагностических и терапевтических молекулярных мишеней в отношении развития таких осложнений атеросклеротического поражения артерий, как ишемический инсульт и инфаркт миокарда. Для полного понимания роли микроРНК в патогенезе атеросклероза и развитии его осложнений, а также разработки таргетных терапевтических подходов необходимо дальнейшее проведение фундаментальных и клинических исследований.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 16-15-10150).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Glass, C.K., and Witztum, J.L. (2001) Atherosclerosis: the road ahead, *Cell*, **104**, 503–516.
2. Chistiakov, D.A., Sobenin, I.A., Orekhov, A.N., and Bobryshev, Y.V. (2015) Human miR-221/222 in physiological and atherosclerotic vascular remodeling, *Biomed Res. Int.*, 354–517.
3. Volny, O., Kasickova, L., Coufalova, D., Cimflova, P., and Novak, J. (2015) MicroRNAs in cerebrovascular disease, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **888**, 155–195.
4. Ross, R. (1999) Atherosclerosis – an inflammatory disease, *N. Engl. J. Med.*, **340**, 115–126.
5. Cipollone, F., Felicioni, L., Sarzani, R., Uchino, S., Spigonardo, F., Mandolini, C., Malatesta, S., Bucci, M., Mammarella, C., Santovito, D., de Lutiis, F., Marchetti, A., Mezzetti, A., and Buttitta, F. (2011) A unique microRNA signature associated with plaque instability in humans, *Stroke*, **42**, 2556–2563.
6. Santovito, D., Egea, V., and Weber, C. (2016) Small but smart: microRNAs orchestrate atherosclerosis development and progression, *Biochim. Biophys. Acta*, **1861**, 2075–2086.
7. Madrigal-Matute, J., Rotllan, N., Aranda, J.F., and Fernandez-Hernando, C. (2013) MicroRNAs and atherosclerosis, *Curr. Atheroscler. Rep.*, **15**, 322.
8. Andreou, I., Sun, X., Stone, P.H., Edelman, E.R., and Feinberg, M.W. (2015) miRNAs in atherosclerotic plaque initiation, progression, and rupture, *Trends Mol. Med.*, **21**, 307–318.
9. Feinberg, M.W., and Moore, K.J. (2016) MicroRNA regulation of atherosclerosis, *Circ. Res.*, **118**, 703–720.
10. Кучер А.Н., Назаренко М.С. (2017) Роль микро-РНК при атерогенезе, *Кардиология*, **57**, 65–76.
11. Maitrias, P., Metzinger-Le Meuth, V., Massy, Z.A., M'Baya-Moutoula, E., Reix, T., Caus, T., and Metzinger, L. (2015) MicroRNA deregulation in symptomatic carotid plaque, *J. Vasc. Surg.*, **62**, 1245–1250.
12. Fang, Z., Du, R., Edwards, A., Flemington, E.K., and Zhang, K. (2013) The sequence structures of human microRNA molecules and their implications, *PLoS One*, **8**, e54215.
13. Kurozumi, S., Yamaguchi, Y., Kurosumi, M., Ohira, M., Matsumoto, H., and Horiguchi, J. (2017) Recent trends in microRNA research into breast cancer with particular focus on the associations between microRNAs and intrinsic subtypes, *J. Hum. Genet.*, **62**, 15–24.
14. Friedman, R.C., Farh, K.K., Burge, C.B., and Bartel, D.P. (2009) Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs, *Genome Res.*, **19**, 92–105.
15. John, B., Enright, A.J., Aravin, A., Tuschl, T., Sander, C., and Marks, D.S. (2004) Human microRNA targets, *PLoS Biol.*, **2**, e36.
16. Kucher, A.N., Nazarenko, M.S., Markov, A.V., Koroleva, Yu.A., and Barabash, O.L. (2017) Variability of methylation profiles of CpG sites in microRNA genes in leucocytes and vascular tissues of patients with atherosclerosis, *Biochemistry (Moscow)*, **82**, 698–706.
17. Кучер А.Н., Бабушкина Н.П. (2011) Роль микро-РНК, генов их биогенеза и функционирования в развитии патологических состояний у человека, *Мед. генетика*, **1**, 3–13.
18. Orom, U.A., Nielsen, F.C., and Lund, A.H. (2008) MicroRNA-10a binds the 5'-UTR of ribosomal protein mRNAs and enhances their translation, *Mol. Cell*, **30**, 460–471.
19. Forman, J.J., and Collier, H.A. (2010) The code within the code: microRNAs target coding regions, *Cell Cycle*, **9**, 1533–1541.
20. Zhou, H., and Rigoutsos, I. (2014) MiR-103a-3p targets the 5'-UTR of GPRC5A in pancreatic cells, *RNA*, **20**, 1431–1439.
21. Smirnova, A.V., Sukhorukov, V.N., Karagodin, V.P., and Orekhov, A.N. (2016) Epigenetic factors in atherogenesis: microRNA, *Biomed. Khim.*, **10**, 269–275.
22. Chakraborty, C., and Das, S. (2016) Profiling cell-free and circulating miRNA: a clinical diagnostic tool for different cancers, *Tumour Biol.*, **37**, 5705–5714.
23. De Gonzalo-Calvo, D., Cenaarro, A., Civeira, F., and Llorente-Cortes, V. (2016) MicroRNA expression profile in human coronary smooth muscle cell-derived microparticles is a source of biomarkers, *Clin. Investig. Arterioscler.*, **28**, 167–177.
24. Kumar, S., Kim, C.W., Simmons, R.D., and Jo, H. (2014) Role of flow-sensitive microRNAs in endothelial dysfunction and atherosclerosis: mechanosensitive athero-miRs, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **34**, 2206–2216.
25. Bazan, H.A., Hatfield, S.A., O'Malley, C.B., Brooks, A.J., Lightell, D., Jr., and Woods, T.C. (2015) Acute loss of miR-221 and miR-222 in the atherosclerotic plaque shoulder accompanies plaque rupture, *Stroke*, **46**, 3285–3287.
26. Santovito, D., Mandolini, C., Marcantonio, P., De Nardis, V., Bucci, M., Paganelli, C., Magnacca, F., Uchino, S., Mastroiacovo, D., Desideri, G., Mezzetti, A., and Cipollone, F. (2013) Overexpression of microRNA-145 in atherosclerotic plaques from hypertensive patients, *Expert Opin. Ther. Targets*, **17**, 217–223.
27. Wezel, A., Welten, S.M., Razawy, W., Lagrauw, H.M., De Vries, M.R., Goossens, E.A., Boonstra, M.C., Hamming, J.F., Kandimalla, E.R., Kuiper, J., Quax, P.H., Nossent, A.Y., and Bot, I. (2015) Inhibition of microRNA-494 reduces carotid artery atherosclerotic lesion development and increases plaque stability, *Ann. Surg.*, **262**, 841–847.
28. Markus, B., Grote, K., Worsch, M., Parviz, B., Boening, A., Schieffer, B., and Parahuleva, M.S. (2016) Differential expression of microRNAs in endarterectomy specimens taken from patients with asymptomatic and symptomatic carotid plaques, *PLoS One*, **11**, e0161632.
29. Raitoharju, E., Lyytikainen, L.P., Levula, M., Oksala, N., Mennander, A., Tarkka, M., Klopp, N., Illig, T., Kahonen, M., Karhunen, P.J., Laaksonen, R., and Lehtimäki, T. (2011) MiR-21, miR-210, miR-34a, and miR-146a/b are up-regulated in human atherosclerotic plaques in the tampere vascular study, *Atherosclerosis*, **219**, 211–217.
30. Wang, R., Dong, L.D., Meng, X.B., Shi, Q., and Sun, W.-Y. (2015) Unique microRNA signatures associated with early coronary atherosclerotic plaques, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **464**, 574–579.
31. Boettger, T., Beetz, N., Kostin, S., Schneider, J., Kruger, M., Hein, L., and Braun, T. (2009) Acquisition of the contractile phenotype by murine arterial smooth muscle cells depends on the miR143/145 gene cluster, *J. Clin. Invest.*, **119**, 2634–2647.
32. Cheng, Y., Liu, X., Yang, J., Lin, Y., Xu, D.Z., Lu, Q., Deitch, E.A., Huo, Y., Delphin, E.S., and Zhang, C. (2009) MicroRNA-145, a novel smooth muscle cell phenotypic marker and modulator, controls vascular neointimal lesion formation, *Circ. Res.*, **105**, 158–166.
33. Cordes, K.R., Sheehy, N.T., White, M.P., Berry, E., Morton, S.U., Muth, A.N., Lee, T.-H., Miano, J.M., Ivey, K.N., and Srivastava, D. (2009) MiR-145 and miR-143 regulate smooth muscle cell fate and plasticity, *Nature*, **460**, 705–710.
34. Ji, R., Cheng, Y., Yue, J., Yang, J., Liu, X., Chen, H., Dean, D.B., and Zhang, C. (2007) MicroRNA expression signature and antisense-mediated depletion reveal an

- essential role of microRNA in vascular neointimal lesion formation, *Circ. Res.*, **100**, 1579–1588.
35. Lin, Y., Liu, X., Cheng, Y., Yang, J., Huo, Y., and Zhang, C. (2009) Involvement of microRNAs in hydrogen peroxide-mediated gene regulation and cellular injury response in vascular smooth muscle cells, *J. Biol. Chem.*, **284**, 7903–7913.
 36. Liu, X., Cheng, Y., Zhang, S., Lin, Y., Yang, J., and Zhang, C. (2009) A necessary role of miR-221 and miR-222 in vascular smooth muscle cell proliferation and neointimal hyperplasia, *Circ. Res.*, **104**, 476–487.
 37. Liu, X., Cheng, Y., Yang, J., Xu, L., and Zhang, C. (2012) Cell-specific effects of miR-221/222 in vessels: molecular mechanism and therapeutic application, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **52**, 245–255.
 38. Xin, M., Small, E.M., Sutherland, L.B., Qi, X., McAnally, J., Plato, C.F., Richardson, J.A., Bassel-Duby, R., and Olson, E.N. (2009) MicroRNAs miR-143 and miR-145 modulate cytoskeletal dynamics and responsiveness of smooth muscle cells to injury, *Genes Dev.*, **23**, 2166–2178.
 39. Quintavalle, M., Elia, L., Condorelli, G., and Courtneidge, S.A. (2010) MicroRNA control of podosome formation in vascular smooth muscle cells *in vivo* and *in vitro*, *J. Cell. Biol.*, **189**, 13–22.
 40. Sheedy, F.J., Palsson-McDermott, E., Hennessy, E.J., Martin, C., O’Leary, J.J., Ruan, Q., Johnson, D.S., Chen, Y., and O’Neill, L.A. (2010) Negative regulation of TLR4 via targeting of the proinflammatory tumor suppressor PDCD4 by the microRNA miR-21, *Nat. Immunol.*, **11**, 141–147.
 41. Torella, D., Iaconetti, C., Catalucci, D., Ellison, G.M., Leone, A., Waring, C.D., Bochicchio, A., Vicinanza, C., Aquila, I., Curcio, A., Condorelli, G., and Indolfi, C. (2011) MicroRNA-133 controls vascular smooth muscle cell phenotypic switch *in vitro* and vascular remodeling *in vivo*, *Circ. Res.*, **109**, 880–893.
 42. Maegdefessel, L., Azuma, J., Toh, R., Deng, A., Merk, D.R., Raiesdana, A., Leeper, N.J., Raaz, U., Schoelmerich, A.M., McConnell, M.V., Dalman, R.L., Spin, J.M., and Tsao, P.S. (2012) MicroRNA-21 blocks abdominal aortic aneurysm development and nicotine-augmented expansion, *Sci. Transl. Med.*, **4**, 122ra22.
 43. Kohlstedt, K., Trouvain, C., Boettger, T., Shi, L., Fisslthaler, B., and Fleming, I. (2013) AMP-activated protein kinase regulates endothelial cell angiotensin-converting enzyme expression via p53 and the post-transcriptional regulation of microRNA-143/145, *Circ. Res.*, **112**, 1150–1158.
 44. Liao, X.B., Zhang, Z.Y., Yuan, K., Liu, Y., Feng, X., Cui, R.R., Hu, Y.R., Yuan, Z.S., Gu, L., Li, S.J., Mao, D.A., Lu, Q., Zhou, X.M., de Jesus Perez, V.A., and Yuan, L.Q. (2013) MiR-133a modulates osteogenic differentiation of vascular smooth muscle cells, *Endocrinology*, **154**, 3344–3352.
 45. Gao, S., Wassler, M., Zhang, L., Li, Y., Wang, J., Zhang, Y., Shelat, H., Williams, J., and Geng, Y.-J. (2014) MicroRNA-133a regulates insulin-like growth factor-1 receptor expression and vascular smooth muscle cell proliferation in murine atherosclerosis, *Atherosclerosis*, **232**, 171–179.
 46. Sala, F., Aranda, J.F., Rotllan, N., Ramirez, C.M., Aryal, B., Elia, L., Condorelli, G., Catapano, A.L., Fernandez-Hernando, C., and Norata, G.D. (2014) MiR-143/145 deficiency protects against progression of atherosclerosis in *Ldlr*^{-/-} mice, *Thromb. Haemost.*, **112**, 796–802.
 47. Climent, M., Quintavalle, M., Miragoli, M., Chen, J., Condorelli, G., and Elia, L. (2015) TGF β triggers miR-143/145 transfer from smooth muscle cells to endothelial cells, thereby modulating vessel stabilization, *Circ. Res.*, **116**, 1753–1764.
 48. Wang, Z., Brandt, S., Medeiros, A., Wang, S., Wu, H., Dent, A., and Serezani, C.H. (2015) MicroRNA 21 is a homeostatic regulator of macrophage polarization and prevents prostaglandin E2-mediated M2 generation, *PLoS One*, **10**, e0115855.
 49. Hosin, A.A., Prasad, A., Viiri, L.E., Davies, A.H., and Shalhoub, J. (2014) MicroRNAs in atherosclerosis, *J. Vasc. Res.*, **51**, 338–349.
 50. Menghini, R., Stohr, R., and Federici, M. (2014) MicroRNAs in vascular aging and atherosclerosis, *Ageing Res. Rev.*, **17**, 68–78.
 51. Romaine, S.P., Tomaszewski, M., Condorelli, G., and Samani, N.J. (2015) MicroRNAs in cardiovascular disease: an introduction for clinicians, *Heart*, **101**, 921–928.
 52. Kim, H.W., and Stansfield, B.K. (2017) Genetic and epigenetic regulation of aortic aneurysms, *Biomed. Res. Int.*, **2017**, 7268521.
 53. Zhao, W., Zhao, S.-P., and Zhao, Y.H. (2015) MicroRNA-143/-145 in cardiovascular diseases, *Biomed. Res. Int.*, **2015**, 531740.
 54. Schober, A., and Weber, C. (2016) Mechanisms of microRNAs in atherosclerosis, *Annu. Rev. Pathol.*, **11**, 583–616.
 55. Poliseno, L., Tuccoli, A., Mariani, L., Evangelista, M., Citti, L., Woods, K., Mercatanti, A., Hammond, S., and Rainaldi, G. (2006) MicroRNAs modulate the angiogenic properties of HUVECs, *Blood*, **108**, 3068–3071.
 56. Davis, B.N., Hilyard, A.C., Lagna, G., and Hata, A. (2008) SMAD proteins control DROSHA-mediated microRNA maturation, *Nature*, **454**, 56–61.
 57. Davis, B.N., Hilyard, A.C., Nguyen, P.H., Lagna, G., and Hata, A. (2009) Induction of microRNA-221 by platelet-derived growth factor signaling is critical for modulation of vascular smooth muscle phenotype, *J. Biol. Chem.*, **284**, 3728–3738.
 58. Chen, Y., Banda, M., Speyer, C.L., Smith, J.S., Rabson, A.B., and Gorski, D.H. (2010) Regulation of the expression and activity of the antiangiogenic homeobox gene *GAX/MEOX2* by ZEB2 and microRNA-221, *Mol. Cell. Biol.*, **30**, 3902–3913.
 59. Dentelli, P., Rosso, A., Orso, F., Olgasi, C., Taverna, D., and Brizzi, M.F. (2010) microRNA-222 controls neovascularization by regulating signal transducer and activator of transcription 5A expression, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **30**, 1562–1568.
 60. Sarkar, J., Gou, D., Turaka, P., Viktorova, E., Ramchandran, R., and Raj, J.U. (2010) MicroRNA-21 plays a role in hypoxia-mediated pulmonary artery smooth muscle cell proliferation and migration, *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, **299**, L861–871.
 61. Wang, M., Li, W., Chang, G.Q., Ye, C.S., Ou, J.S., Li, X.X., Liu, Y., Cheang, T.Y., Huang, X.L., and Wang, S.M. (2011) MicroRNA-21 regulates vascular smooth muscle cell function via targeting tropomyosin 1 in arteriosclerosis obliterans of lower extremities, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **31**, 2044–2053.
 62. Weber, M., Baker, M.B., Moore, J.P., and Searles, C.D. (2010) MiR-21 is induced in endothelial cells by shear stress and modulates apoptosis and eNOS activity, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **393**, 643–648.
 63. Zhu, N., Zhang, D., Chen, S., Liu, X., Lin, L., Huang, X., Guo, Z., Liu, J., Wang, Y., Yuan, W., and Qin, Y. (2010) Endothelial enriched microRNAs regulate angiotensin II-induced endothelial inflammation and migration, *Atherosclerosis*, **215**, 286–293.
 64. Hergenreider, E., Heydt, S., Treguer, K., Boettger, T., Horrevoets, A.J.G., Zeiher, A.M., Scheffer, M.P., Frangakis, A.S., Yin, X., Mayr, M., Braun, T., Urbich, C., Boon, R.A., and Dimmeler, S. (2014) Atheroprotective

- communication between endothelial cells and smooth muscle cells through miRNAs, *Nat. Cell. Biol.*, **14**, 249–256.
65. Lovren, F., Pan, Y., Quan, A., Singh, K.K., Shukla, P.C., Gupta, N., Steer, B.M., Ingram, A.J., Alistair, J., Gupta, M., Al-Omran, M., Teoh, H., Marsden, P.A., and Verma, S. (2012) MicroRNA-145 targeted therapy reduces atherosclerosis, *Circulation*, **126**, S81–90.
 66. Rippe, C., Blimline, M., Magerko, K.A., Lawson, B.R., LaRocca, T., Donato, A.J., and Seals, D.R. (2012) MicroRNA changes in human arterial endothelial cells with senescence: relation to apoptosis, eNOS and inflammation, *Exp. Gerontol.*, **47**, 45–51.
 67. Zhang, X., Mao, H., Chen, J.Y., Wen, S., Li, D., Ye, M., and Lv, Z. (2013) Increased expression of microRNA-221 inhibits PAK1 in endothelial progenitor cells and impairs its function via c-Raf/MEK/ERK pathway, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **431**, 404–408.
 68. Das, A., Ganesh, K., Khanna, S., Sen, C.K., and Roy, S. (2014) Engulfment of apoptotic cells by macrophages: a role of micro-RNA-21 in the resolution of wound inflammation, *J. Immunol.*, **192**, 1120–1129.
 69. Zhou, J., Wang, K.-C., Wu, W., Subramaniam, S., Shyy, J.Y.J., Chiu, J.-J., Li, J.Y.-S., and Chien, S. (2011) MicroRNA-21 targets peroxisome proliferators-activated receptor- α in an autoregulatory loop to modulate flow-induced endothelial inflammation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 10355–10360.
 70. Fan, X., Wang, E., Wang, X., Cong, X., and Chen, X. (2014) MicroRNA-21 is a unique signature associated with coronary plaque instability in humans by regulating matrix metalloproteinase-9 via reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs, *Exp. Mol. Pathol.*, **96**, 242–249.
 71. Fichtlscherer, S., De Rosa, S., Fox, H., Schwietz, T., Fischer, A., Liebetrau, C., Weber, M., Hamm, C.W., Roxe, T., Muller-Ardogan, M., Bonauer, A., Zeiher, A.M., and Dimmeler, S. (2010) Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease, *Circ. Res.*, **107**, 677–684.
 72. Eitel, I., Adams, V., Dieterich, P., Fuernau, G., De Waha, S., Desch, S., Schuler, G., and Thiele, H. (2012) Relation of circulating microRNA-133a concentrations with myocardial damage and clinical prognosis in ST-elevation myocardial infarction, *Am. Heart J.*, **164**, 706–714.
 73. Tsai, P.C., Liao, Y.-C., Wang, Y.-S., Lin, H.-F., Lin, R.-T., and Juo, S.-H.H. (2013) Serum microRNA-21 and microRNA-221 as potential biomarkers for cerebrovascular disease, *J. Vasc. Res.*, **50**, 346–354.
 74. Soeki, T., Yamaguchi, K., Niki, T., Uematsu, E., Bando, S., Matsuura, T., Ise, T., Kusunose, K., Hotchi, J., Tobiume, T., Yagi, S., Fukuda, D., Taketani, Y., Iwase, T., Yamada, H., Wakatsuki, T., Shimabukuro, M., and Sata, M. (2015) Plasma microRNA-100 is associated with coronary plaque vulnerability, *Circ. J.*, **79**, 413–418.
 75. Leistner, D.M., Boeckel, J.N., Reis, S.M., Thome, C.E., De Rosa, R., Keller, T., Palapies, L., Fichtlscherer, S., Dimmeler, S., and Zeiher, A.M. (2016) Transcoronary gradients of vascular miRNAs and coronary atherosclerotic plaque characteristics, *Eur. Heart J.*, **37**, 1738–1749.

ROLE OF microRNA IN DEVELOPMENT OF INSTABILITY OF ATHEROSCLEROTIC PLAQUE

I. A. Koroleva¹, M. S. Nazarenko^{1,2,3*}, and A. N. Kucher¹

¹ *Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science, 634050 Tomsk, Russia; E-mail: maria.nazarenko@medgenetics.ru*

² *Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences, 650000 Kemerovo, Russia*

³ *Siberian State Medical University, 634050 Tomsk, Russia*

Received July 12, 2017

Revision received September 11, 2017

MicroRNAs are small non-coding single-strand RNAs that regulate gene expression. There are an increasing number of studies highlighting the important role of microRNAs in development and progression of cardiovascular diseases caused by atherosclerotic lesions of arteries. Here we review the available data on the association of microRNA expression with instability of atherosclerotic plaques in model animals and in humans. We emphasize data on miR-21, -100, -127, -133, -143/145, -221/222, and -494 because they were analyzed in more than one study. We discuss the possibility of using microRNAs in diagnosis and therapy of atherosclerosis and its complications.

Keywords: atherosclerosis, instability of human atherosclerotic plaque, microRNA